

# Acidification apicale des tubes germinatifs du champignon aquatique *Saprolegnia parasitica* corrélée avec la mycose de poissons soumis au stress acide

Autor(en): **Turian, Gilbert / Käppeli, Federico / Peduzzi, Raffaele**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Botanica Helvetica**

Band (Jahr): **101 (1991)**

Heft 2

PDF erstellt am: **29.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-70319>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

## Acidification apicale des tubes germinatifs du champignon aquatique *Saprolegnia parasitica* corrélée avec la mycose de poissons soumis au stress acide

Gilbert Turian<sup>1</sup>, Federico Käppeli<sup>2</sup> et Raffaele Peduzzi<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Microbiologie générale, Département de Botanique et Biologie végétale, Université de Genève, Sciences III, 30, Quai Ernest-Ansermet, CH-1211 Genève 4, Switzerland

<sup>2</sup> Istituto Cantonale Batteriosierologico, 6904 Lugano, Switzerland

Manuscrit accepté le 27 juin 1991

### Abstract

Turian G., Käppeli F. and Peduzzi R. 1991. Apical acidification of the germ tubes of the aquatic fungus *Saprolegnia parasitica* correlated with the mycosis of acid-stressed fishes. Bot. Helv. 101: 267–271.

The apices of germ tubes outgrown from zoospores of *Saprolegnia parasitica* are normally acidified as indicated by the quenching of acridine orange fluorescence. A correlation is proposed between this acidification and that of acid rain polluted lakes in which fishes are more susceptible to the mycosis.

### Introduction

Les «white mildews» dont font partie les champignons Oomycètes du genre *Saprolegnia* parasites des poissons sont favorisés par un abaissement du pH de leur milieu environnant (Torrens 1984). Nous l'avons confirmé en montrant que de tels milieux favorisent l'extension du mycélium, d'une part et, d'autre part, la différenciation de zoospores de diverses espèces de *Saprolegnia* (Peduzzi et coll. 1987, 1991).

Nous avons précédemment mis en évidence, à l'aide d'indicateurs de pH, colorants ou fluorescents, que les apex végétatifs du champignon Ascomycète *Neurospora crassa* étaient acidifiés (Turian 1983, McGillivray & Gow 1987) de même que ceux d'*Achlya bisexualis* (Turian et coll. 1985). Il devenait donc intéressant de rechercher ce même effet à l'apex des hyphes parasites d'un autre Oomycète, *Saprolegnia parasitica*, et de tenter de le mettre en corrélation avec les exigences pour un milieu de croissance acide du champignon parasite.

Nous présentons ci-dessous ces résultats complémentaires obtenus avec *Saprolegnia* et illustrant chromatiquement le virage de fluorescence («quenching») de l'orange d'acridine démontrant l'acidification apicale de ses hyphes. Ces nouveaux documents se superposent donc avec les images précédemment obtenues (Peduzzi et coll. 1976) de tubes germinatifs de zoospores en voie de pénétration dans le derme de poisson.

## Matériels et méthodes

L'agent mycotique a été originellement isolé à partir de poissons malades provenant des eaux libres. L'isolement du champignon a ensuite permis de réinfecter expérimentalement des poissons en laboratoire et de repérer les tubes germinatifs des zoospores infectantes sur coupes de derme colorées par imprégnation argentique (Grocott 1955).

*Saprolegnia parasitica* (Coker CBS 540.67) a été cultivé en milieu synthétique SPS selon Scott et coll. (1962) récemment modifié (Peduzzi et coll. 1991). Ces cultures ont été menées à sporulation à partir de disques de mycélium végétatif cultivé environ 72 heures sur du milileu «Corn Meal Agar» (BBL), puis transférées dans de l'eau de robinet stérile pendant 24 heures. La carence en substances nutritives provoque la formation de zoosporanges et la libération consécutive de zoospores. Celles-ci, recueillies par centrifugation à basse vitesse, ont été mises en germination en milieu synthétique liquide selon Powell et coll. (1972). La suspension de zoospores germées est concentrée  $10 \times$  par centrifugation à  $1000 \times g$  pendant 10 min.

Un volume déterminé de ces plantules est ensuite mélangé avec un volume égal d'acridine orange  $2 \cdot 10^{-4}$  M (Sigma). Ce fluorochrome est sensible aux changements de pH, sa fluorescence virant du vert-jaune à pH neutre au rouge-orange à pH acide (Turian 1983).

Après exposition des zoospores germées 10 min à l'orange d'acridine, nous les avons observées avec le microscope à fluorescence Olympus BH2 et les avons microphotographiées sur film Fujicolor 1600 ASA.

## Résultats et discussion

In vivo, les tubes germinatifs émergeant de zoospores pénètrent dans le derme du poisson perpendiculairement à sa surface (Fig. 1 a). In vitro, de tels tubes issus de zoospores en milieu liquide et immergés dans l'acridine orange présentent un virage de la fluorescence de ce composé du vert-jaunâtre dans le corps sporal et à la base du tube au rouge-orangé dans leur zone apicale (Fig. 1 b). On peut donc en déduire qu'à l'instar des tubes germinatifs d'autres champignons, dont l'Oomycète apparenté *Achlya* (Turian et coll. 1985), il existe un gradient basifuge (acropète) d'acidification dans leur zone apicale.

L'acidité différentielle des apex d'hyphes végétatifs peut s'expliquer soit par une libération vectorielle de protons à partir des mitochondries frontales à phosphorylation/oxydation découplée et donc à gradient protonique dissipé dans le cytosol apical (Turian et coll. 1985), soit par un symport de protons avec des acides aminés ou des sucres (Gow et coll. 1984, Harold 1986). Cet influx de protons impliquant des boucles électriques a cependant été récemment remis en question (Cho et coll. 1991) et il paraît donc plus plausible de considérer un modèle d'acidification apicale endogène. A ce sujet, l'on peut remarquer que le virage maximal au rouge se présente dans la pointe ultime des hyphes (Fig. 1 b).

Quel rôle peut donc jouer cette acidification apicale des hyphes dans leur activité zoo-agressive? Rappelons au préalable que les champignons du genre *Saprolegnia* peuvent vivre soit à l'état de saprophytes sur des déchets organiques, soit à l'état de parasites sur les poissons (Peduzzi et coll. 1976, Nolard-Tintigner 1981). Dans ce dernier cas, ils présentent une forte activité protéolytique par une enzyme de type chymotrypsine libératrice d'acides aminés (Peduzzi & Bizzozero 1977) et pouvant par conséquent jouer un rôle perforateur du derme du poisson.

Nous pouvons suggérer que l'acidification de l'eau par les pluies devrait contrer l'efflux sous-apical des protons par la  $H^+$ -ATPase régulant l'homéostasie du pH interne des hyphes (Slayman et coll. 1973, Slayman & Slayman 1974, Harold 1986). En conséquence, et suite à cette perturbation de l'homéostasie du pH, l'acidité interne du tube

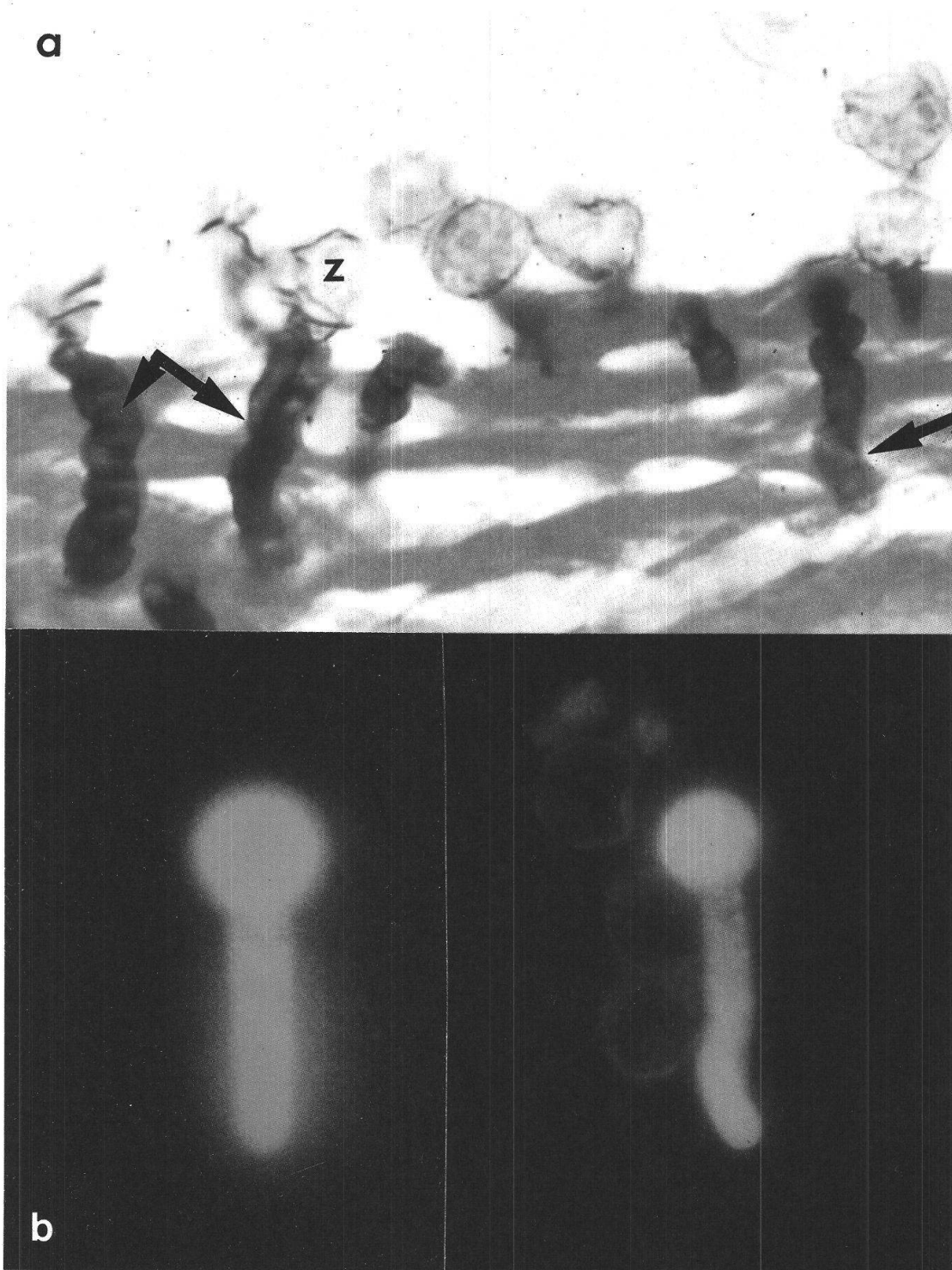


Fig. 1

Tubes germinatifs issus de zoospores (z) de *Saprolegnia parasitica*:

- a. *in vivo*, pénétrant (flèches) le derme du poisson et colorés par imprégnation argentique.
- b. *in vitro*, colorés à l'acridine orange dont le virage de la fluorescence au rouge-orange dans l'apex est indicatif d'une chute de pH à ce niveau selon un gradient baso-apical; celui-ci s'étage de la fluorescence vert-jaunâtre du corps sporal et de la base de son tube germinatif jusqu'à la pointe ultime du jeune hyphe en élévation.

germinatif et des hyphes en élongation devrait en être accrue, spécialement dans leur zone apicale suite à l'influx vectoriel des protons (Turian 1983). Cette acidification pourrait présumément avoir pour double conséquence: activation d'un antiport  $H^+/Ca^{2+}$  (Turian et coll. 1985), d'une part, accroissement de l'exocytose – pouvant requérir le calcium par analogie avec les tubes polliniques (Picton & Steer 1983, Herth et coll. 1990) – des nombreuses petites vésicules présumément acidifiées et riches en protéase, en route vers l'apex ultime des hyphes.

En conclusion, nous pouvons penser que l'acidification des nombreux lacs alpins sur rocs cristallins rend les «mousses blanches» à *Saprolegnia* d'autant plus agressives qu'elles sont en milieu plus acide et cela jusqu'aux plus basses valeurs de pH, non seulement défavorables et stressantes pour les poissons, mais biologiquement intolérables à leur vie même.

### Résumé

L'apex du tube germinatif des zoospores de *Saprolegnia parasitica* est acidifié ainsi que le démontre le virage de fluorescence de l'acridine orange. Une corrélation est proposée entre cette acidification et celle de l'eau des lacs pollués par les pluies acides rendant les poissons plus vulnérables à la saprolégniose.

Nous tenons à remercier Mmes A. Fehr et F. Grange pour la préparation du manuscrit ainsi que le Dr. F. Barja pour ses appuis microtechniques.

### Références

- Cho C.-W., Harold F. M. and Schreurs W. J. A. 1991. Electric and ionic dimensions of apical growth in *Achlya* hyphae. *Exper. Mycol.* 15: 34–43.
- Gow N. A. R., Kropf D. L. and Harold F. M. 1984. Growing hyphae of *Achlya bisexualis* generate of longitudinal pH gradient in the surrounding medium. *J. Gen. Microbiol.* 130: 2967–2974.
- Grocott R. G. 1955. Stain for fungi in tissue sections and smears using Gomori's methenamine-silver nitrate technique. *Am. J. clin. Path.* 25: 275–279.
- Harold F. M. 1986. *The vital force: a study of bioenergetics.* W. H. Freeman and Company, New York.
- Herth, W., Reiss H.-D. and Hartmann E. 1990. Role of calcium ions in tip growth of pollen tubes and moss protonema cells. In: *Tip growth in plant and fungal cells.* I. B. Heath ed., Academic Press, New York, pp. 91–118.
- McGillivray A. M. and Gow N. A. R. 1987. The transhyphal electric current of *Neurospora crassa* is carried principally by protons. *J. Gen. Microbiol.* 133: 2875–2881.
- Nolard-Tintigner N. 1981. Ability of zoospores versus oospores to cause saprolegniosis in fish. In *Sexuality and Pathogenicity of Fungi.* R. Vanbreuseghem and C. de Vroey, eds., Masson, Paris, pp. 97–106.
- Peduzzi R. and Bizzozero S. 1977. Immunochemical investigation of four *Saprolegnia* species with parasitic activity in fish serological and kinetic characterization of a chymotrypsin-like activity. *Microbial Ecology* 3: 107–118.
- Peduzzi R., Nolard-Tintigner N. and Bizzozero S. 1976. Etude du processus de pénétration, mise en évidence d'une enzyme protéolytique et aspect histopathologique. *Riv. It. Pisc. Ittiop.* XI: 109–117.
- Peduzzi R., Käppeli F. and Turian G. 1987. Water acidification and development of *Saprolegnia* parasiting fishes. In *Actes du 46ème Congrès de la Soc. Suisse de Microbiol.*, P. 38. Berne 1987.

- Peduzzi R., Käppeli F. and Turian G. 1991. Répercussions de l'acidification de l'eau sur l'insurgence chez le poisson de la saprolégnoïse (*Saprolegnia parasitica*, *Saprolegnia ferax*). *Sydowia* 43: 135–147.
- Picton J. M. and Steer M. W. 1983. Evidence for the role of  $\text{Ca}^{2+}$  ions in tip extension in pollen tubes. *Protoplasma* 115: 11–17.
- Powell J. R., Scott Jr. W. W. and Krieg N. R. 1972. Physiological parameters of growth in *Saprolegnia parasitica* Coker. *Mycopath. Mycol. Appl.* 47: 1–40.
- Scott W. W., Powell J. R. and Seymour R. L. 1962. Pure culture techniques applied to the growth of *Saprolegnia* spp. on a chemically defined medium. *Va. J. Sci.* 14: 42–46.
- Slayman C. L. and Slayman C. W. 1974. Depolarization of the plasma membrane of *Neurospora* during active transport of glucose: evidence for a proton-dependent cotransport system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71: 1935–1939.
- Slayman C. L., Long W. S. and Lu C. Y.-H. 1973. The relationship between ATP and an electrogenic pump in the plasma membrane of *Neurospora crassa*. *J. Membrane Biol.* 14: 305–338.
- Torrens I. M. 1984. Les pluies acides. *L'observateur de l'OCDE* 129: 9–15.
- Turian G. 1983. Polarized acidification at germ tube outgrowth from fungal spores (*Morchella* ascospores, *Neurospora* conidia). *Bot. Helv.* 93: 27–32.
- Turian G., Ton-That T. C. and Ortega Perez R. 1985. Acid tip linear growth in Fungi: requirements for  $\text{H}^+/\text{Ca}^{2+}$  inverse gradients and cytoskeleton integrity. *Bot. Helv.* 95: 311–322.